複方"養肝湯 1 號與 2 號"對大鼠保肝效果之研究

胡敏夫 [1*]、顏銘宏 [2]、廖俊旺 [3]、劉光隆 [4]
[1] 行政院農業委員會農業試驗所農藝組
[2] 高雄醫學大學藥學系
[3] 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所應用毒理組
[4] 愛生中醫診所

摘要

由行政院農業委員會農業試驗所生產九種臺灣民間常用的保肝草藥，分別以全株或根為材料組成養肝湯 1 號及 2 號複方，經水煎、濃縮及冷凍乾燥所得凍晶粉末產率 22.06 %，以口服 300 及 500 mg kg^{-1} 二種劑量，分別進行對位乙醯氨基酚 acetaminophen (APAP) 500 mg kg^{-1} 劑量誘發大鼠急性肝炎之保肝效果評估，結果顯示，經口服養肝湯 1 號 300 mg kg^{-1} bw 劑量後注射 APAP，體內出現顯著保肝的效果，其 SGOT 及 SGPT 值(U L^{-1})，分別低於 APAP 組與 silymarin 保肝藥劑組，差異達 5 % 顯著水準。此情形續經肝切片檢查發現，口服養肝湯 1 號 300 mg kg^{-1} bw 劑量 24 hr 後，經注射 APAP 之大鼠肝臟中央區出血(centrizonal hemorrhagic)、壞死及淋巴球(lymphocytes)與 kupffer 細胞的聚集，引起發炎等現象出現明顯抑制。對大鼠肝急毒性(LD_{50})評估上，發現對大鼠之口服急毒性之 LD_{50} 值大於 10 g kg^{-1} bw，口服急毒性等級屬『正常使用時無毒性(unlikely to present hazard in normal use) 』。

關鍵詞：中草藥、複方、保肝效果、乙醯氨基酚、水飛薊素。

* 通信作者, minfu@wufeng.tari.gov.tw
投稿日期：2004 年 4 月 29 日
接受日期：2004 年 6 月 27 日
作物、環境與生物資訊 1:229-238 (2004)
Crop, Environment & Bioinformatics 1:229-238 (2004)
189 Chung-Cheng Rd., Wufeng, Taichung Hsien 41301, Taiwan (ROC)

Hepatoprotective Effects of the Folk Medicines of "Yan-Kan-Tang No.1" and "Yan- Kan-Tang No.2" on Rats

Min-Fu Hu[1*], Ming-Hong Yen[2], Jiuun-Wang Liao[3] and Kun-Long Liu[4]

[1] Division of Agronomy, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Tachung Hsien, Taiwan (ROC)
[2] School of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, Kaoshiung, Taiwan (ROC)
[3] Department of Applied Toxicology, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan (ROC)
[4] Ai-Sun Medical Clinic, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan (ROC)

ABSTRACT

The folk medicines of "Yan-Kan-Tang No.1 (YKT No.1) " and "Yan-Kan-Tang No.2 (YKT No.2) " were made of nine different crude drugs collected from Taiwan Agricultural Research Institute Medicinal Garden, Wufeng, Taiwan. The effective portions of these crude drugs were either roots or whole plants. The concentrated powder was made from aqueous extracts of the crude drugs, with the recovery rate of 22.06%, and was

used to feed the rats for evaluating its hepatoprotective effect. Two different doses, 300 and 500 mg kg^{-1} bw, were given separately before the acetaminophen-induced hepatotoxicity occurred at dose of 500 mg kg^{-1} bw, and then the activities of transaminases of SGOT and SGPT (U L^{-1}) in rats were significantly decreased after the treatment with YKT No.1 at the rat of 300 mg kg^{1} relative to those of the acetaminophen and silymarin-treat group. The morphological changes in the hepatic tissue were evident. Symptoms appeared from slight to moderate in focal vacuolization of centrilobular hepatocytes, in broad inflammatory infiltration of lymphocytes, and in appearance of kupffer cells around the central vein in the liver of rats treated with acetaminophen. For an oral toxicity study of YKT No.1, it indicated that the acute oral LD_{50} was greater than 10 g kg^{-1} bw in rats, suggesting that the oral dose used for this study caused no hazardous effect to mammalians.

Key words: Crude drugs, Prescription, Hepato-protective effect, Acetaminophen, Silymarin.

前言

肝炎目前是國人十大死亡原因之一(DOH 1996)，因此，積極研究傳統處方為國家當前的重要政策。“青草茶或稱百草茶”，為幾千年祖先運用智慧代代改良留下來的產品，它通常是由多種中草藥所組成，不僅色、香、味俱全，而且經過行家配製兼有「虛者補之，實者瀉之，寒者熱之，熱者寒之」等功效，流行於民間專供養生保健或治病之飲料，甚為可口。科學昌明後，許多利用化學藥品所製成的精製食品或飲料，帶給人類莫大的危害，引發研究利用天然物的決心，以百草茶為基礎的飲料遂受到重視。然民間所出售記載的青草茶常常因地及材料取得，組成不同，方家又於其中各增減一味，其效果又有所不同，如山苧麻(*Boehmeria frutescens Thunberg*.)、石上柏(*Selaginella doederleinii Hieron*)、白花蛇舌草 (*Hedyotis diffusa* (willd))、半枝蓮(*Scutellaria barbata* Don)、一枝香(*Vernonia cinerea* Less.)、鳳尾草(*Pteris ensiformis* Burm)、甜珠草(*Scoparia dulcis* L.)、黃蓮蕉(*Canna flaccida* Rosc.)及鴨跖草(*Commelina communis* L.)等為民間常用治療肝炎疾病之偏方(Chiu 1991)。Lin *et al*. (1988)以柴胡(*Bupleurum chinense)*、黃柏(*Phellodendron wilsonii)*、威靈仙*(Clematis chinensis)* 及白花蛇舌草 (*Hedyotis corymbosa*.)等組成配方水煎對小白鼠 CCl_4 所誘發肝炎之 SGOT 及 SGPT 指數有顯著降低作用；同時，用黃水茄(*Solanum incanum)*、蒲公英*(Taraxacum formosanum)*及水梔子(*Gardenia jasminoides)* 個別水煎液處理亦發現對小白鼠 CCl_4 所誘發肝炎之肝細胞有顯著的保護作用(Lin *et al*. 1989)。另 Lin *et al*. (1990)指出山防風(*Echinops grijisii)* 及北柴胡(*E.Latifolius)* 能改善肝組織壞死及發炎現象。上述報告皆探討單方藥材為主，甚少針對傳統複方研究。

本研究希望廣泛的從民間徵求配方、徵集種原種植，詳細調查各種藥草的農藝特性及生產量，並進一步根據原有的配方加以改良，配製成養肝湯 1 號及 2 號，並測定其清除超氧陰離子效果、藥理分析及小白鼠口服急毒性評估，以開發方便消費者飲用之食品或飲料，供國人作養生保健之用，並行銷國外市場。

材料與方法

廣泛的從民間收集專供肝臟養生驗方，進一步篩選及收集中草藥種原與藥材，獲得鳳尾草等本土性九種養肝藥草種子及材料，進行下列研究。

一、田間栽培觀察

將七種中草藥種子或塊莖先進行預措，於春天播種育苗，然後分別移植田間進行觀察並調查其生長情形，甜珠草及半枝蓮於植後四個月採收，黃蓮蕉及苧麻須二年始能採收，收穫時調查其單株乾物重，估計公頃產量及粗收益，並評估其經濟效益。另石上柏及鳳尾草採用孢子繁殖，即從山區採回植株經陰乾後，用手搓揉收集孢子，於溫室事先準備長形試缽，缽底儲適當高度水，水面上隔一層有透水孔之塑膠板，然後置滿泥炭土與蛇木，孢子撒佈前用 50℃溫水消毒，其上蓋塑膠布密封，待冷卻後將孢子均勻撒佈其上，再將塑膠布蓋妥，二日間掀蓋並適量澆水，約 50 至 60 天始產生原葉體，待原葉體成長小株進行移植於多數試缽，並置於溫室水牆邊管理。

二、研製配方

根據中醫學「虛者補之，實者瀉之，寒者熱之，熱者寒之」原理，按藥草屬性調成養肝湯 1 號及 2 號配方進行水煎成茶飲，進行評賞比較其口味，配方材料及用量詳如(Table 1)，養肝湯抽取液的製備，將養肝湯 1 號及 2 號組成藥材依比率配好，除去雜質，細切後在 40℃下連續乾燥 8 hr，各取 330 g 淨重量分別放入三角燒瓶中，加入 1 L 體積的逆滲透水，以水浴法加熱煮沸 1 hr，以濾紙趁熱過濾，殘渣再加入 1 L 體積的逆滲透水再煮沸 1 hr，合併濾液，經減壓濃縮及冷凍乾燥製成凍晶粉末 72.8 g (產率=22.06 %)備用，實驗前以生理食鹽水調整之。

三、養肝茶清除超氧陰離子自由基之活性效果測定

採用 cytochrome c 還原比色法清除超氧陰離子自由基活性評估，首先配製“E 液”，包含有 KH_2PO_4 (50 mM) 2 mL, xanthine (0.1 mM) 40 mL, EDTA (0. 1 mM) 2 mL, cytochrome c (0.1 mM) 2 mL。控制組於石英管中加入 E 液 400 µL，水 580 µL，混合均勻，放好石英管先歸零，再加入 xanthine oxidase 20 µL，迅速攪拌，採用 spectrophotometer (U-2000, Hitachi, Japan)儀於 550 nm 下測吸光值，此為空白對照組之吸光值(Ac)。生藥組於石英管中加入 E 液 400 µL，水 530 µL，養肝湯 1 號及養肝湯 2 號抽出液 50 µL，混合均勻，放好石英管先歸零，再加入 xanthine oxidase 20 µL，迅速攪拌，於 550 nm 下測檢品之吸光值(At)。

Table 1. The components of Yan-Kan-Tang No.1 and Yan-Kan-Tang No.2 prescriptions.

Crude drug	Amount (g)	Prescription YKT No.1	Prescription YKT No.2
(a)*Boehmeria frutescens Thunberg*.	30	+	+
(b)*Selaginella doederleinii* Hieron	30	+	–
(c)*Hedyotis diffusa* (willd).	30	+	+
(d)*Scutellaria barbata* Don	30	+	+
(e)*Vernonia cinerea* Less.	30	+	+
(f)*Pteris ensiformis* Burm.	30	+	+
(g)*Scoparia dulcis* L.	120	+	+
(h)*Canna flaccida* Rosc.	30	+	+
(i)*Commelina communis* L.	30	-	+

$$抑制率(inhibition\ rate;\ I\%) = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100\%$$

四、 "養肝湯"保肝效果動物試驗

1. 試驗動物

試驗動物為購自財團法人國家實驗動物中心(臺北)之 Wistar 品系雄性大鼠(Wistar Abino Rats)，動物週齡為 4 - 6 週，體重約 150 – 180 g 重。飼養於半日照環境，房間空調溫度控制在 22±3℃，相對濕度 55±5 %，試驗動物給予充足之飼料(Rodent Laboratory Chow 5001, Purina, MO, USA)，任其自由飲水及進食。

2. 試驗設計

將大鼠分為正常組、APAP 組、對照藥物 silymarin (Sigma, St. Louis, MO, USA) 組、養肝湯 1 號組、養肝養肝湯 2 號組，每組各 8 隻大鼠。Acetaminophen (APAP, Sigma)用量為 500 mg kg^{-1} 以分別口服 silymarin (Sigma)、養肝湯 1 號及 2 號不同劑量後注射。試驗進行之前動物先禁食 16 hr (隔夜)，之後首先對正常組及 APAP 組大鼠口服投予生理食鹽水(10 mL kg^{-1})，對照藥物組口服投予 silymarin (25 mg kg^{-1})，生藥組以口服方式分別投予養肝湯 1 號組、養肝湯 2 號組二種不同劑量(300 及 500 mg kg^{-1}，各相當原生藥量 1.36 g 及 2.27 g)，2 hr 後，正常組腹腔注射生理食鹽水(10 mL kg^{-1})，其餘各組皆腹腔注射 APAP (500 mg kg^{-1} in 25% PEG 400)用以誘發大鼠急性肝損傷。APAP 注射後第 24 hr 犧牲大鼠，由頸動脈採血，並切取肝臟製成肝組織切片，在光學顯微鏡(Nikon Optic-2, Japan)觀察病理病變。

3. 血清轉氨酵素(SGOT、SGPT)之分析

將取得之血液放於離心機(Hitachi Himac CR 22F, Japan)中，以 3000 rpm 轉速在 4℃下離心十分鐘，取上層血清並依 Reitman and Frankel (1957) 所描述之方法測定 SGOT 及 SGPT 值(U L^{-1})。

4. 肝組織切片之製作

從大鼠肝臟各小葉切取約 0.5 cm^3 之肝小塊，浸於中性福馬林液中固定 24 hr，再以 50～99.9%酒精逐次脫水，以石蠟滲蠟包埋，再以滑動式切片機(Sakura IVS-410, Japan)切成厚約 5 μm 之石臘切片，以 Hematoxylin-Eosin 染色後製成組織切片，在光學顯微鏡(Nikon Optic-2)下觀察病理病變情形。

5. "養肝湯"1 號對大鼠口服急毒性試驗

大鼠口服急毒性試驗係依據衛生署公告之「健康食品安全及功效評估方法」測試規範(DOH 1999)，該規範並符合美國環保署(EPA 1998)之藥物毒物試驗準則。將大鼠分處理組及控制組各 10 隻，每處理 5 隻雄及 5 隻雌。處理前先禁食 16 hr (隔夜)，然後以胃管餵食養肝湯 1 號，餵食劑量為 10 mg kg^{-1} bw (投予體積 10 mL kg^{-1})。餵食後至第 14 天為止，每日觀察並記錄各組臨床症狀及死亡情形，餵食後第 7 與第 14 天測量體重。試驗結束後，所有大鼠均以 100 % 二氧化碳安樂死犧牲，進行肉眼病變檢查。試驗動物使用與操作均依據『實驗動物管理與使用指南』規範進行(Yu *et al.* 2001)。

五、統計分析方法

本研究中，生藥組與控制組比較採 Student's *t*-test 法分析，急毒性實驗之資料採併對 Student's *t*-test 法分析; LD_{50} 則採 Probit 分析法 (Beta, Anthony, UK)，p 值小於 0.05 將被判定具有實驗上有顯著性差異之意義。

結果

一、養肝草藥之生產

九種養肝藥草中，先收穫有甜珠草、半枝蓮及山苧麻三種，甜珠草平均單株乾重為 34.3±7.6 g，每公頃種植 66,600 株，可收 2,284 公斤，市價 0.6 kg 為 94 元，粗收益 357,800 元；半枝蓮平均單株乾重為 370±7 g，每公頃種植 22,200 株，每次收穫量平均為 8,000 kg，市價 0.6 kg 為 33 元(一年收 3 次)，粗收益 1,300,000 元；山苧麻須以二年生之根莖入藥，平均單株乾重為 24.7±4 g (選上品並經切片)，每公頃種植 111,000 株(採密植 0.45 x 0.2 m)，可收 7,850 kg，市價 0.6 kg 為 100 元，粗收益 1310,000 元。餘如黃花蓮蕉、白花蛇舌草、石上柏及鳳尾草等將分年進行收穫，因此本試驗材料中石上柏與鳳尾草先從山區採回，餘由樣本園挖掘。

二、養肝湯 1 號及 2 號清除超氧陰離子自由基活性效果之評估

試驗為參考 McCord and Fridovich 之方法，利用 xanthine oxidase 催化 xanthine 變成 uric acid，同時產生超氧陰離子，再以 cytochrome *c* 作檢測劑，利用 cytochrome c 與・O_2^-之間的氧化還原作用，造成還原型 cytochrome *c* 增加，於 550 nm 下有特異吸收。比色法檢測 550 nm 之吸光值增減，即可定量還原型 cytochrome *c* 含量，並間接評估超氧陰離子含量與養肝湯 1 號、養肝湯 2 號熱水抽出物抑制超氧陰離子之活性(SOD-like activity)。由結果顯示(Table 2)，養肝湯 1 號比養肝湯 2 號具有較佳的清除超氧陰離子自由基之活性。

三、APAP 誘發大鼠急性肝炎投予養肝茶後之血清轉氨酵素表現

以不同種類與數量組成養肝湯 1 號及 2 號配方，進行對位乙醯氨基酚(APAP)誘發大屬急性肝炎之保肝效果實驗評估，結果顯示養肝湯 1 號 300 mg kg^{-1} 劑量口服後經注射 APAP 得肝炎之大鼠有顯著保肝的效果，其 SGOT 及 SGPT 指數(U L^{-1})各為 192.5 ± 91.3 及 57.3 ± 10.3，分別低於 APAP 組 1,877.2 ± 464.1 及 303.2 ± 136.9 與 silymarin 保肝藥劑組之 289.4 ± 151.0 及 65.1 ± 19.2，此差異達 5 %顯著水準，當正常組(normal) SGOT 及 SGPT 的指數為 106.7 ± 14.3 及 35.3 ± 2.7(Table 3)。

四、肝組織切片之觀察

肝切片檢查發現，注射 APAP 後大鼠肝組織，其肝廣面的發炎及壞死等現象很明顯(Table 4)，但注射前口服藥物或任何養肝湯均達輕至中度的改善，特別口服養肝湯 1 號 300 mg kg^{-1} 劑量 24 hr 後，其效果比坊間販售的 silymarin 保肝藥顯著(Fig.1)。

Table 2. Comparison of inhibiting SOD-like activity with "YKT NO.1 and NO.2" using xanthine/xanthine oxidase method.

Prescription	Concentration (mg mL^{-1})	SOD-like activity (Inhibition %)[z]	Xanthine oxidase inhibition (Inhibition %)
Y K T NO.1	10	72.2	48.9
	1	66.7	− 18.9
	0.1	50.0	− 63.3
Y K T NO.2	10	68.5	55.6
	1	66.7	18.9
	0.1	33.3	− 24.4

[z] Inhibition %=(Ac-At/Ac) x 100 %. Ac=OD value of control; At=OD value of "YKT " treatment.

Table 3. Comparison of the hepatic protective effect on declining by APAP-induced acute promotion of SGOT and SGPT in different treatments.

Groups	Dose (mg kg^{-1})	Serum Transaminases (U L^{-1}) SGOT	SGPT
(A)Normal[z]	–	106.7± 14.3 [Y]	35.3± 2.7
(B)Acetaminophen	500	1877.2± 464.1	303.2± 136.9
(CK)Silymarin	25	289.4± 151.4	65.1± 19.2
(C)YKT No.1	300	192.5± 91.3*	57.3± 10.3*
(D)YKT No.1	500	325.3± 100.7*	73.1± 36.8*
(E)YKT No.2	300	2461.0± 402.7	309.2± 88.3
(F)YKT No.2	500	1486.8± 311.0	204.5± 57.6

z (A) No-treated. (B) APAP alone for 24 hrs. (CK) Treated with silymarin at 25 mg kg^{-1} before the injection of 500 mg APAP kg^{-1}. (C) Treated with YKT No.1 at 300 mg kg^{-1} before the injection of 500 mg APAP kg^{-1} (D)Treated with YKT No.1 at 500 mg kg^{-1} before the injection of 500 mg APAP kg^{-1} (E) Treated with YKT No.2 at 300 mg kg^{-1} before the injection of 500 mg APAP kg^{-1} (F) Treated with YKT No.2 at 500 mg kg^{-1} before the injection of 500 mg APAP kg^{-1}.

Y Data were expressed as mean ± SD (n=6).

* P＜0.05 significantly different from acetaminophen treated group by Student's t-test.

五、大鼠口服急毒性(LD_{50})評估

餵食養肝湯 1 號 10 g kg^{-1} 劑量觀察對大鼠急毒性，試驗結果發現，餵食高劑量之養肝湯 1 號並未造成大鼠中毒或死亡現象(Table 5)，且在第 7 及 14 天大鼠體重，雄鼠分別為 221.8 ± 2.2 及 241.0 ± 5.0 g，與控制組 219.8 ± 4.4 及 239.0 ± 4.4 g 均無顯著差異(Table 6)；雌鼠分別為 212.6 ± 8.0 及 230.6 ± 9.7 g，與控制組 205.6 ± 12.8 及 219.4 ± 17.8 g 亦無顯著差異。因此，養肝湯 1 號對大鼠之口服急毒性 LD_{50} 值大於 10 g kg^{-1} BW，口服急毒性等級屬『正常使用時無毒性(unlikely to present hazard in normal use)』。

討 論

Acetaminophen (APAP)是臺灣民眾最常使用的解熱鎮痛劑之一，由於 APAP 在肝臟代謝，APAP 能被 cytochrome p-450 氧化成中間代謝物 *N*-acetyl-*p*-benzoquinoneimine (NAPQI)，肝臟中具還原性、能清除自由基的 glutathione 能補捉 NAPQI，形成 mercapturic acid 而排出體外。但若過多的 NAPQI 無法被清除而積存在肝臟時，會與組織的大分子形成共價鍵結、氧化脂質、烷化或氧化 Thiol 基與改變鈣離子恆定而造成肝損傷，在高劑量下會造成急性肝損傷。APAP 的肝組織病變係於中央靜脈區(central vein)週邊細胞發炎或壞死，為肝毒性主要觀察重點，即肝竇區鬱血(sinusoid congestion)及較大面積的細胞壞死現象(Boyd and Bereczky 1966, Prescott *et al*. 1971, Mitchell *et al*. 1973a, 1973b, Moldeus 1978, Black 1980, Moore *et al*. 1985, Nelson 1990)。本試驗乃藉 APAP 之毒性產生嚴重中央區出血(centrizonal hemorrhagic)、壞死與淋巴球(lymphocytes)及 kupffer 細胞的聚集，引起發炎，因而造成血清中 SGOT 與 SGPT 值顯著性增加。

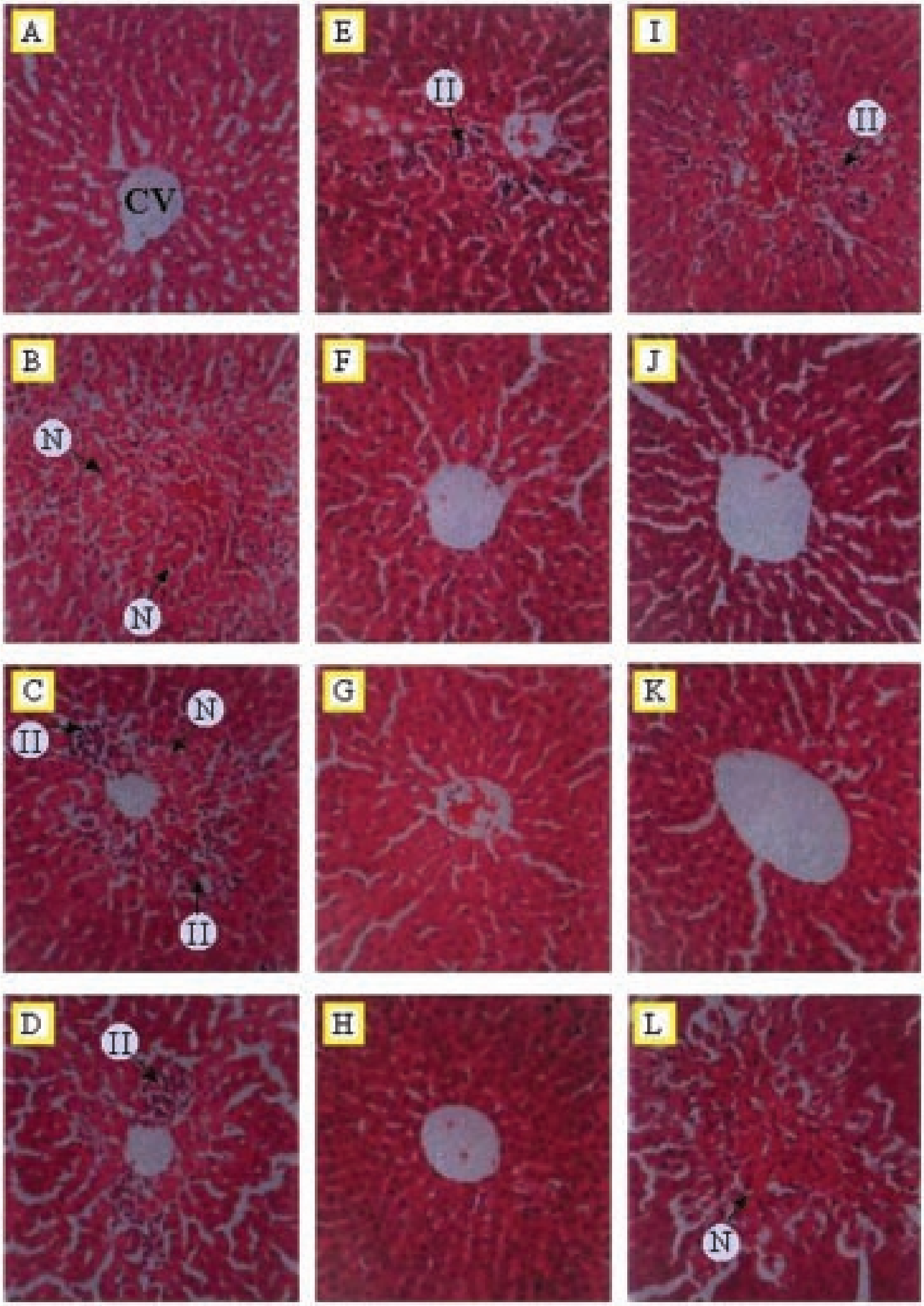

Fig 1. The photomicrographs of liver section taken from rats. The magnification is 200 X. A : untreated group; CV: central vein ; B & C : APAP group (500 mg kg^{-1}, i .p .); D through L given 500 mg APAP after the following treatment, D : silymarin group (25 mg kg^{-1}, oral); E & F : YKT No.1 group (300 mg kg^{-1}, oral); G & H : YKT No.1 group (500 mg kg^{-1} oral); I & J : YKT No.2 group (300 mg kg^{-1}, oral); K & L : YKT No.2 group (500 mg kg^{-1}, oral). N : necrosis; II : inflammatory infiltration of the lymphocytes and kupffer cells (as arrow shows).

Table 4. Gradation of histopathological changes in livers of rats after APAP treatment.

Groups	Cord	Inflammation	Necrosis	Fatty change
Normal [z]	1	–	–	–
	2	–	–	–
	3	–	–	–
	4	–	–	–
	5	–	–	–
	6	–	–	–
Acetaminophen	1	+ +	+ +	–
	2	+ +	+ +	–
	3	+ +	+ +	±
	4	+	+	±
	5	+ +	+ +	+
	6	+ +	+	–
Silymarin	1	+	+ +	–
	2	+	+	–
	3	+	–	–
	4	+	–	+
	5	±	–	–
	6	+ +	+ +	–
YKT No.1 (300 mg kg^{-1})	1	–	–	–
	2	±	–	–
	3	±	–	–
	4	±	–	–
	5	+	+	–
	6	–	–	–
YKT No.1 (500 mg kg^{-1})	1	±	–	–
	2	±	±	–
	3	–	–	–
	4	+ +	+	±
	5	–	–	–
	6	–	–	–
YKT No.2 (300 mg kg^{-1})	1	+ +	+	±
	2	±	–	–
	3	+	+ +	–
	4	±	–	–
	5	+ +	+ +	±
	6	+	±	±
YKT No.2 (500 mg kg^{-1})	1	+	+ +	+ +
	2	+	±	±
	3	+ +	+ +	–
	4	+ +	+ +	±
	5	+ +	+ +	±
	6	+ +	+	+

[z] The description same as Table 3.
(-): No change; (±): Slight; (+): Moderate; (++); Severe.

Table 5. Mortality of rats after being singly gavaged with "YKT No.1".

Dose ($g\ kg^{-1}$)	Dead no./Treated no. Male	Female	Total	Mortality (%)[z]
0	0/5	0/5	0/10	0
10	0/5	0/5	0/10	0

[z] Mortality (%)=(Dead no. / Initial no.)x100%.

Table 6. Body weight change of rats after being singly gavaged with "YKT No.1" on day 0, 7 and 14.

Sex	Dose ($g\ kg^{-1}$)	Body weight (g) Day 0	Day 7	Day 14
Male	0	202.2± 3.4[z]	219.8± 4.4	239.0± 4.4
	10	207.2± 4.0	221.8± 2.2	241.0± 5.0
Female	0	186.6± 4.1	205.6± 12.8	219.4± 17.8
	10	191.8± 2.9	212.6± 8.0	230.6± 9.7

[z] Data were expressed as mean±SD (n=5).
* Significant difference between control and treated groups at $p<0.05$.

Silymarin 是由水飛薊植物抽取，一般均作為保肝藥劑，它含有 silibinin、silidianin 及 silicristan 三種等成分，於本試驗作為對照組。養肝湯所用的藥材如山苧麻含有 phenolic compound 及 terpene 等成分；石上柏含有 alkaloids、 terpene 及皂苷(saponin) 等成分；白花蛇舌草含有熊果酸(ursolic acid) 及 henthriaoontane 等成分;半枝蓮亦含有生物鹼類、 flavone glycosides、 terpene 及酚類等成分；一枝香含有 flavone glycosides、 酚類及 aminoacids 等成分；鳳尾草含有 flavone glycosides、 酚類及 aminoacids 等成分；甜珠草含有生物鹼類、amelline、 mannitol、n-hexacosanol 及 beta- sitosterol 等成分;黃蓮蕉含有生物鹼類成分與鴨跖草含有 flavone glycosides 成分(邱 1992-2003)，經查扮演保護肝成分裡確實有包含上述的成分，本試驗因係採取複方之水煎液，成分複雜比較難進行定量與定性分析，且此項研究係國內首先整合農藝、藥理及毒理分析專家共同研究，尚待具生化背景人員參與繼續研究未明事宜。

至於養肝湯 2 號採用鴨跖草，其因乃平地較易種植及量產，若其效果良好則可取代石上柏，以免量產時發生缺貨。比較保肝效果發現養肝湯 1 號僅口服量 300 $mg\ kg^{-1}$ 其 SGOT 及 SGPT 值(UL^{-1})最低，比 silymarin 處理組良好，但養肝湯 2 號則變異性很大，其 SGOT 值平均達 1,486 至 2,461，SGPT 值為 204 至 309 頗難讓人信服。不過，從比較清除超陰氧離子自由基之活性上，在 0.1 $mg\ mL^{-1}$ 劑量養肝湯 1 號就達 50 %，而養肝湯 2 號僅 33.3 %。雖然生藥抽出物含有許多複雜且不穩定之化合物，一旦其能干擾 cytochrome *c* 之氧化還原作用時，便不適此試驗之判定。因此，本試驗結果只能初步證實養肝湯 1 號比養肝湯 2 號具有較佳的清除超氧陰離子自由基之活性。但基於成本及時間等便利性的考量，此法尚不失為一初步評估藥物抗氧化活性之首選方法。

引用文獻

Blacks IM (1980) Acetaminophen hepatotoxicity. **Gastroenterology** 78: 382.

Boyd EM, GM Bereczky (1966) Liver necrosis from paracetamol. **Br. J. Pharmacol. Chemother.** 26: 606-614.

Chiu HF, CC Lin, CC Yang, F Yang (1988) The pharmacological and pathological studies on several hepatic protective crude drugs from Taiwan (I). **Amer. J. Chinese Medicine** 18(3-4):127- 137.

Chu HF, CC Lin, CC Yang, F Yang (1989) Pharmacological and pathological studies on several hepatic protective crude drugs from Taiwan (II). **Amer. J. Chinese Medicine** 19(1):17-23.

Chiu NY (1991) The original plants of PAI-TSAO-TEA (in Chinese). p.1-130. Insitute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College press, Taichung.

Chiu NY, KH Chang (1992-2003) The illusterated medical plants of Taiwan, Vol.1-6 (in Chinese). p.1-255, p.1-287, p. 1-279, p.1-185, p.1-289, p.1-292. Insitute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College press, Taichung.

Department of Health (1999) Oral acute LD_{50} study. p.1-22. *In*: Methods for Heath Food Evaluation. DOH No.8803782 , Taipei, Taiwan , ROC.

Environmental Protection Agency (1998) Office of prevention, pesticides and toxic substances. Acute Oral Toxicity. p.1-10. *In*: OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 870.1100, EPA 712–C–98–190,Washington, DC.

International Program of Chemical Safety (IPCS) (2002) The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2000-2002. p.1-58. WHO/PCS/ 01.5, IOMC.

Lin CC, MH Yen, HF Chiu, CH Chang (1990) The pharmacological and pathological studies on Taiwan folk medicine (IV): the effects of *Echinops Grijisii* and *E. Latifolius*. **Amer. J. Chinese Medicine** 18 (3-4): 113-120.

Lin CC, CH Lin, HF Chiu, MF Hu (1990) The pharmacological and pathological studies on Taiwan folk medicine (VII): the antiinflammatory effect of *Echinops grjiisii.* **Amer. J. Chinese Medicine** 20(2): 127-134.

Mitchell, JR, DJ Jollow , WZ Potter, DC Davis,JR Gillette, BB Brodie (1973a) Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 187: 185-194.

Mitchell JR, DJ Jollow, WZ Potter, J R Gillette, BB Brodie (1973b) Acetaminophen-induced hepatic necrosis. V. Protective role of glutathione. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 187: 211-217.

Moldeus P (1978) Paracetamol metabolism and toxicity in isolated hepatocytes from rat and mouse. **Biochem. Pharmacol.** 27: 2859-2863.

Moore M, M Thor, G Moore, S Nelson, P Moldeus, S Orrenius (1985) The toxicity of acetaminophen and N-acetyl *p*-benzoquinone-imine in isolated hepatocytes is associated with thio depletion and increased cytosolic Ca^{2+}. **J. Biol. Chem.** 260: 13035-13040.

Nelson SD (1990) Molecular mechanism of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. **Sem. in Liver Diease** 10 : 267-278.

Organization for Economic Cooperation and Development. Acute oral toxicity (1987).p.1-7. *In*: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects: No. 401. 2002. Adopted 24 February, Paris, France.

Prescott LF, N Wright, P Roscoe, SS Brown (1971) Plasma-paracetamol half-life and hepatic necrosis in patients with paracetamol overdosage. **Lancet** *1*: 519-522.

Reitman S, S Frankel (1957) A colorimetric method of the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic trnsaminase. **Am. J. Clin. Path.** 25: 940.

Yu, JYL, K Cheng, BJ Chen, WJ Chang, HC Chen, CC Hong, PJ Lee, SC. Liang, KS Sheu, YY Sung, SH Tang, CW Tsai, C S Wang, MH Wang, LS Yen, CK Yu (2001) A guideline for the care and use of laboratory animals (in Chinese). published by the Chinese Society for the Laboratory Animal Science, Taipei, Taiwan, ROC. 171pp.

－編輯：楊純明